

ARTIKEL PENELITIAN

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSANA, ETER DAN AIR DARI EKSTRAK ETANOLIK DAUN JAMBU MEDE (*Anacardium occidentale* L.) TERHADAP BAKTERI *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 DENGAN METODE DIFUSI

ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF *n*-HEXANE, ETHER, AND WATER FRACTIONS OF CASHEW LEAVES (*Anacardium occidentale* L.) AN ETHANOL EXTRACT AGAINST *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 BY DIFFUSION METHOD

Dewi Putri Meirastuti¹, Fransiska Leviana¹, Ratno Agung Samsumaharto²

¹Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi

²Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Setia Budi

ABSTRAK

Anacardium occidentale L. merupakan tanaman suku Anacardiaceae yang ditemukan secara luas di daerah tropik dan dapat tumbuh di segala macam tanah. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui efektifitas fraksi *n*-heksana, eter dan air dari ekstrak etanolik daun jambu mede sebagai antibakteri terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361.

Penyarian daun jambu mede dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% dilanjutkan fraksinasi dengan pelarut *n*-heksana, eter dan air. Metode pengujian aktivitas antibakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode difusi. Metode difusi untuk mengukur diameter zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri dengan konsentrasi yang digunakan adalah 50%, 25% dan 12,5%. Fraksi paling aktif diuji kandungan kimianya secara KLT.

Berdasarkan hasil penelitian, metode difusi fraksi *n*-heksana memiliki diameter zona hambat rata-rata 16,7 mm pada konsentrasi 50%, 15,3 mm pada konsentrasi 25% dan 14,3 mm pada konsentrasi 12,5%. Fraksi eter memiliki diameter zona hambat rata-rata 21,7 mm pada konsentrasi 50%, 20,3 mm pada konsentrasi 25% dan 19,0 mm pada konsentrasi 12,5%. Fraksi air memiliki diameter zona hambat rata-rata 15,3 mm pada konsentrasi 50%, 14,3 mm pada konsentrasi 25% dan 13,3 mm pada konsentrasi 12,5%. Fraksi paling aktif eter diuji kandungan kimia secara KLT. Hasil identifikasi menunjukkan fraksi eter positif mengandung senyawa polifenol, flavonoid dan alkaloid.

Kata kunci : Daun Jambu Mede, fraksi *n*-heksana, fraksi eter, fraksi air, *Shigella dysenteriae* ATCC 9361.

ABSTRACT

Anacardium occidentale L. is a plant of Anacardiaceae family that is found widely in the tropics and can be grown in all kinds of soil. The aim of the study was to find out the effectiveness of *n*-hexane, ether, and water fractions of cashew leaves ethanol extract against *Shigella dysenteriae* ATCC 9361.

The extraction of the cashew leaves by maceration method used ethanol 96% solvent, followed by fractionation with *n*-hexane, ether, and water solvents. The antibacterial activity test was by diffusion method. The concentrations used for measuring the diameter of inhibition zone against the growth of bacteria were 50%, 25%, and 12,5%. The chemical contents of the most active fraction were tested by TLC.

According to the result of the study, diffusion method of *n*-hexane fraction had inhibition zone diameter on average 16.7 mm at concentration of 50%, 15.3 mm at concentration of 25% , and 14.3 mm at concentration of 12,5%. The ether fraction had inhibition zone diameter on average 21.7 mm at concentration of 50%, 20.3 mm at concentration of 25%, and 19.0 mm at concentration of 12,5%. The water fraction had inhibition zone diameter on average 15.3 mm at concentration of 50%, 14,3 mm at concentration of 25%, and 13,3 mm at concentration of 12,5%. The chemical contents of the most effective ether fraction were tested by TLC. The result of identification showed that ether fraction positively contained polyphenol, flavonoid, and alkaloid.

Keywords: Cashew leaf, *n*-hexane fraction, ether fraction, water fraction, *Shigella dysenteriae* ATCC 9361.

PENDAHULUAN

Di Indonesia dikenal lebih dari 20.000 spesies tanaman obat, namun baru 1.000 spesies saja yang sudah didata dan baru sekitar 300 spesies yang sudah dimanfaatkan untuk pengobatan (Hariana 2004). Lebih kurang 20% resep obat di negara maju memuat tanaman obat atau bahan berkhasiat yang berasal dari tanaman, dan di negara berkembang mencapai 80%. Obat tradisional adalah obat yang berasal dari tumbuh-tumbuhan, hewan, mineral, dan atau sediaan galeniknya atau campuran dari bahan-bahan tersebut yang belum mempunyai data klinis dan dipergunakan dalam usaha pengobatan berdasarkan pengalaman (Depkes 1983). Tanaman berkhasiat obat perlu ditingkatkan dalam hal upaya pengenalan, penelitian, pengujian dan pengembangan khasiat serta keamanan suatu tanaman obat agar peran obat tradisional dalam pelayanan kesehatan dapat meningkat (Depkes 2000), salah satunya adalah tanaman jambu mede (*Anacardium occidentale* L.).

Bagian dari tanaman jambu mede yang sering digunakan sebagai obat adalah buah, daun maupun kulit batang. Daun jambu mede mengandung zat kimia seperti saponin, tanin-galat, flavonol, asam anakardiol, asam elagat, senyawa fenol, kardol, dan metil kardol, dan minyak atsiri (Dalimartha 2000). Secara tradisional, daun jambu mede digunakan untuk mengobati penyakit seperti : kencing manis, disentri dan radang mulut (Raina 2011).

Salah satu penyakit yang secara tradisional dapat diobati dengan daun jambu mede adalah disentri (Raina 2011). Disentri merupakan suatu infeksi akut radang colon yang salah satunya disebabkan oleh kuman genus *Shigella*. Disentri ditularkan secara oral melalui air, makanan, lalat yang tercemar oleh ekskreta pasien. Penyakit ini berlangsung dari beberapa jam sampai 3 hari, jarang lebih dari tiga hari. Adapun gejala yang timbul yaitu defekasi sedikit-sedikit dan dapat terus-menerus, sakit perut dengan rasa kolik, muntah, muntah-muntah, dan sakit kepala (Noer *et al.* 1996).

Shigella dysenteriae merupakan bakteri yang menghasilkan toksin sebagai penyebab iritasi dinding usus. Penyakit yang ditimbulkan dari bakteri ini adalah disentri basiler dengan gejala sakit perut, nyeri, diare dan demam, tinja encer mengandung lendir dan darah (Suryono 1995).

Berdasarkan penelitian terdahulu telah diketahui bahwa ekstrak etanol daun jambu mede terbukti efektif sebagai antibakteri terhadap *Shigella dysenteriae* (Arekemase *et al.* 2011). Berdasarkan hal tersebut maka perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai aktivitas antibakteri daun jambu mede terhadap *Shigella dysenteriae* dengan pemisahan komponen senyawa berdasarkan polaritasnya secara fraksinasi sehingga diketahui fraksi teraktif yang mempunyai daya hambat atau daya bunuh terhadap *Shigella dysenteriae*.

Metode penyarian yang digunakan adalah maserasi kemudian dilanjutkan dengan fraksinasi. Pada metode maserasi pelarut yang digunakan adalah etanol 96%. Sedangkan pada fraksinasi digunakan pelarut nonpolar, semipolar, dan polar. Untuk pelarut nonpolar digunakan *n*-heksana, pelarut semipolar digunakan eter, dan pelarut polar menggunakan air.

Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan berbagai metode, yaitu metode difusi dan dilusi atau pengenceran. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode difusi. Metode difusi dapat digunakan untuk mengetahui garis tengah daerah hambatan jernih yang mengelilingi obat dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan terhadap bakteri yang diperiksa (Jawetz *et al.* 1986).

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat timbang analisa yang mempunyai ketelitian baca minimum 0,1 mg dan daya muat maksimum 100 gram, inkas, ose platina, cawan petri, erlenmeyer, tabung

reaksi, gelas ukur, pipet tetes, neraca analitik, pipet volume (10 ml; 15 ml; 0,5 ml), siring, pinset, inkubator, kain flannel, kapas, corong kaca, boor prop, mikropipet, kapas lidi steril, autoclave, kertas saring, oven binder, lampu spiritus dan detektor sinar UV 254 nm.

Bahan

Bahan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun jambu mede (*Anacardium occidentale* L.) segar yang diambil dari daerah Palur, Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah. Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Shigella dysenteriae* yang dibiakkan. Medium yang digunakan dalam penelitian ini adalah medium *Braint Heart Infusion* (BHI), *Standart Brown II*, *Mueller Hinton Agar* (MHA), *Sulfida Indol Motility* (SIM), *Kligler Iron Agar* (KIA), *Lysine Iron Agar* (LIA), *Citrat*, *Salmonella Shigella Agar* (SSA). Bahan kimia yang digunakan adalah pelarut *n*-heksana, eter, etanol 96%, aquadest, metanol, *n*-butanol, asam asetat, kloroform, anisaldehyd, asam sulfat, toluen, etil asetat.

Jalannya penelitian

Pengambilan bahan

Daun jambu mede (*Anacardium occidentale* L.) diambil dari daerah Palur, Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah. Kondisi daun yang diperoleh dipilih kualitas yang paling baik.

Pembuatan serbuk

Daun jambu mede (*Anacardium occidentale* L.) dicuci dengan air, ditiriskan lalu dikeringkan dengan oven pada suhu 50 °C. Daun kering diblender dan diayak dengan menggunakan ayakan no. 40 sampai didapatkan serbuk daun jambu mede (*Anacardium occidentale* L.) yang diinginkan.

Penetapan susut pengeringan serbuk daun jambu mede

Penetapan susut pengeringan daun jambu mede digunakan menggunakan alat *Moisture balance*. Suhu atau temperatur diatur yaitu sebesar 105 °C kemudian dimasukkan neraca timbang dengan posisi 0,00. Sampel serbuk daun jambu mede sebanyak 2,000 g dimasukkan. Kemudian ditunggu sampai alat berbunyi yang

menandakan hasil analisa telah selesai. Susut pengeringan memenuhi syarat dimana susut pengeringan suatu serbuk simplisia tidak boleh lebih dari 10% (Depkes 1979).

Pembuatan ekstrak etanol 96% daun jambu mede

Serbuk daun jambu mede ditimbang sebanyak 200 gram kemudian dimasukkan ke dalam wadah atau bejana, bersama dengan cairan penyari yang telah ditetapkan, bejana ditutup rapat dan isinya dikocok berulang-ulang, selama 5 hari.

Fraksinasi ekstrak etanolik daun jambu mede

Ekstrak kental yang diperoleh dari hasil ekstraksi daun jambu mede selanjutnya difraksinasi cair-cair dengan menggunakan 50 ml air dan 50 ml *n*-heksana sebanyak tiga kali menggunakan corong pisah sampai membentuk dua lapisan cairan yang terpisah secara nyata. Fraksi *n*-heksana dipisahkan dari fraksi berairnya dan dikumpulkan dalam wadah yang berbeda, kemudian dikering anginkan. Fraksi berair yang diperoleh difraksinasi cair-cair kembali dengan 50 ml eter sebanyak tiga kali menggunakan corong pisah sampai membentuk dua lapisan cairan yang terpisah secara nyata. Fraksi eter dipisahkan dari fraksi airnya dan dikumpulkan dalam wadah yang berbeda, kemudian dikering anginkan, sisanya adalah fraksi air dipekatkan dengan waterbath.

Pembuatan suspensi bakteri uji

Bakteri uji *Shigella dysenteriae* dalam biakan murni diambil satu ose dan kemudian dimasukkan tabung yang telah diisi media BHI (*Brain Heart Infusion*) cair kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam, selanjutnya diencerkan dengan aquadest steril sampai didapat kekeruhan yang sama dengan *Standart Brown II* (Bonang & Koeswardono 1982).

Pengujian aktivitas antibakteri

Metode yang digunakan yaitu difusi dengan menyelupkan kapas lidi steril pada suspensi bakteri yang telah dibuat kemudian diinokulasikan ke dalam medium MHA dengan metode perataan (*Spread Plate Method*) dan medium didiamkan selama 10 menit pada suhu kamar agar suspensi biakan terdifusi ke dalam media. Pada media tersebut dibuat 4 sumuran

dengan boor prop dengan jarak yang sama. Pada sumuran diisi sampel uji yaitu ekstrak etanolik, fraksi *n*-heksana, fraksi eter, fraksi air, kotrimoksazol 15% sebagai kontrol positif dan pelarut DMSO 1% sebagai kontrol negatif dengan menggunakan pipet droper. Konsentrasi ekstrak dan fraksi masing-masing 50%, 25% dan 12,5%. Masa inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dan diamati hasilnya, setelah itu diukur diameter zona hambat sekitar sumuran yang dinyatakan dalam satuan mm. Zona yang tidak ditumbuhi bakteri di sekitar sumuran menandakan adanya daya hambat terhadap *Shigella dysenteriae* ATCC 9361. Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali replikasi.

Kromatografi lapis tipis

Kromatografi lapis tipis dilakukan untuk menguji fraksi aktif dalam ekstrak etanol daun jambu mede. Ekstrak atau fraksi aktif dilarutkan dalam pelarut yang sesuai, kemudian ditotolkan di atas lempeng kromatografi, setelah totolan kering, lempeng KLT dimasukkan dalam bejana yang sudah jenuh oleh fase gerak yang sesuai. Pengembangan dilakukan sampai jarak tertentu, kemudian dilakukan deteksi di bawah sinar UV 254 nm dan 366 nm serta pereaksi tertentu. Bercak yang terdeteksi ditentukan harga Rf dan penampakan warnanya.

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian

Tabel 1. Prosentase bobot kering terhadap bobot basah daun jambu mede

Bobot basah (gram)	Bobot kering (gram)	Prosentase (% ^b / _b)
3200	1042	32,562 %

Tabel 2. Rendemen ekstrak maserasi daun jambu mede

Serbuk daun jambu mede (gram)	Ekstrak kental (gram)	Rendemen ekstrak (% ^b / _b)
200	86	43 %

Tabel 3. Rendemen hasil fraksinasi fraksi *n*-heksana, eter, dan air dari ekstrak etanol daun jambu mede

Fraksi	Rendemen (%)
<i>n</i> -heksana	14,23
Eter	28,10
Air	47,96

Tabel 4. Diameter zona hambat uji aktivitas antibakteri dari ekstrak dan fraksi daun jambu mede terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361

Kandungan uji	Konsentrasi	Diameter hambat (mm)			
		Replikasi			Rata-rata
		1	2	3	
Ekstrak etanol	50%	19	18	20	19,0±1,00
	25%	17	17	18	17,3±0,57
	12,5%	15	16	17	16,0±1,00
<i>n</i> -heksana	50%	16	17	17	16,7±0,57
	25%	15	16	15	15,3±0,57
	12,5%	14	15	14	14,3±0,57
Eter	50%	22	21	22	21,7±0,57
	25%	20	20	21	20,3±0,57
	12,5%	19	18	20	19,0±1,00
Air	50%	15	15	16	15,3±0,57
	25%	14	14	15	14,3±0,57
	12,5%	13	13	14	13,3±0,57
Kontrol positif (+)	15 %	40	40	40	40,0±0,00
Kontrol negatif (-)		0	0	0	0

Keterangan :
Kontrol negatif (-) : pelarut DMSO 1%
Kontrol positif (+) : kotrimoksazol 15%

Tabel 5. Hasil identifikasi fraksi eter daun jambu mede secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Senyawa	Pereaksi semprot	Warna sinar UV	Rf	Pustaka (Harborne 1987)	Ket
Flavonoid	Sitroborat	kuning	0,73	Flouresensi biru, kuning, ungu pada UV 366 nm	(+)
Polifenol	FeCl ₃	Biru	0,87	Biru pada sinar biasa	(+)
Alkaloid	Dragendrof	Jingga	0,96	Jingga sampai merah tua pada sinar biasa	(+)

Pembahasan

Hasil pengujian aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi eter, dan fraksi air memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361 ditunjukkan dengan adanya zona jernih di sekitar sumuran. Fraksi eter lebih efektif dibandingkan dengan ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, dan air. Hal ini terlihat dengan adanya zona jernih di sekitar sumuran yang tidak ditumbuhi bakteri pada fraksi eter lebih luas.

Dilakukan uji Kruskal-Wallis karena data tidak terdistribusi normal. Pada uji Kruskal-Wallis didapatkan hasil distribusi zona hambat antara ekstrak etanol 96%, fraksi *n*-heksana, fraksi eter, fraksi air, kotrimoksazol

15%, dan pelarut DMSO pada berbagai konsentrasi berbeda signifikan. Selanjutnya dilakukan uji Mann-Whitney untuk menguji kemaknaan perbedaan dua sampel tidak berhubungan (independen) dengan berskala ordinal.

Berdasarkan hasil zona hambat pada masing-masing fraksi terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasinya, zona hambat semakin besar. Namun, berdasarkan hasil uji Mann-Whitney zona hambat pada konsentrasi 25% tidak berbeda signifikan dengan konsentrasi 12,5% dan 50%. Akan tetapi zona hambat pada konsentrasi 12,5% berbeda signifikan dengan konsentrasi 50%.

Zona hambat paling besar terdapat pada fraksi eter 50% dan pada uji Mann-Whitney zona hambat fraksi eter 50% menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, dan fraksi air pada konsentrasi yang sama. Hasil analisa secara KLT pada fraksi eter menunjukkan bahwa fraksi eter mengandung senyawa flavonoid, polifenol, dan alkaloid.

DAFTAR PUSTAKA

- [Departemen Kesehatan RI]. 1979. *Farmakope Indonesia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Departemen Kesehatan RI]. 1983. *Pemanfaatan Tanaman Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Departemen Kesehatan RI]. 2000. *Pedoman Pelaksanaan Uji Klinik Obat Tradisional*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. hlm 1-2.
- Arekemase MO, Oyeyiola GP, Aliyu MB. 2011. Antibacterial Activity of *Anacardium occidentale* L. on Some Enterotoxin Producing Bacteria. *International Journal of Biology* 3:92-99.
- Bonang G dan Koeswardono. 1982. *Mikrobiologi Untuk Laboratorium dan Klinik*. Jakarta: PT Gramedia. hlm 77-78, 176-191.
- Dalimartha S. 2000. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Cetakan 1. Jakarta: Trubus Agriwidya.
- Hariana A. 2004. *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. 1986. *Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan*. Ed ke-16. Gerard Bonang, penerjemah; Jakarta: EGC. hlm 239, 241-243. Terjemahan dari: *Review of Medical Mikrobiology*.
- Noer HMS, Waspadji S, Rachman AM, Lesmana LA, Widodo D, Isbagio H, Alwi I, Husodo UB. 1996. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. Ed ke-3. Jakarta: PAPDI. hlm: 458-459.
- Raina. 2011. *Ensiklopedi Tanaman Obat untuk Kesehatan*. Yogyakarta: Absolut
- Suryono. 1995. *Bakteriologi Umum dan Bakteriologi Klinik*. Kediri: Akademi Analisis Kesehatan Bhakti Wiyata.